

## **BIORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS**

*Plaza G.<sup>1</sup>, Otero Cabada M.<sup>2</sup>, Torres N.<sup>2</sup>, Velásquez M., Corbalán E.<sup>3</sup>, Rodríguez T.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Fac. de Ingeniería – <sup>2</sup> Fac. Ciencias Naturales – INENCO – CIUNSA

Universidad Nacional de Salta

Avda. Bolivia 5150.

CP 4400. Salta. Argentina

Email: [gloria@ciunsa.edu.ar](mailto:gloria@ciunsa.edu.ar)

Fax: 0387 - 4255489 – Tel: 0387 - 4255424

<sup>3</sup> Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

Ruta 51- Cerrillos

### **RESUMEN**

Se estudia la bioremediación de suelos contaminados con el interés de disminuir el efecto contaminante de hidrocarburos a niveles no tóxicos.

Los ensayos a escala laboratorio, desarrollados en condiciones de temperatura, aireación y humedad controlada permiten evaluar alternativas de utilización de nutrientes, inoculación de bacterias y/o aprovechamiento de la microflora natural del suelo.

Los resultados muestran la activación de la microflora natural por la utilización de nutrientes en proporción adecuada, obteniéndose remociones de hidrocarburo de 70 % en 55 días de proceso. Asimismo, se analiza la efectividad del proceso de bioremediación cuando se utiliza suelo recuperado. Así, la utilización de suelo virgen puede limitarse al mínimo evitando desmontes innecesarios para su provisión.

### **PALABRAS CLAVES**

Suelos contaminados, petróleo, bioremediación, bioestimulación.

### **INTRODUCCIÓN**

La contaminación de suelos por hidrocarburos tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades de los suelos con procesos de salinización, toxicidad sobre los microorganismos, mortandad de la vegetación por efectos fitotóxicos, entre otros.

La biodegradación efectuada por poblaciones naturales nativas de microorganismos, representa un mecanismo para la recuperación de suelos contaminados con petróleo. La actividad enzimática microbiana es la responsable de dicha biodegradación de contaminantes.

La EPA (Environmental Protection Agency de los E.E.U.U) define Biorremediación como la manipulación de sistemas biológicos para efectuar cambios en el ambiente (Pozzo 2000). En un ambiente con suficiente disponibilidad de oxígeno, fósforo, nitrógeno, y otros nutrientes, los contaminantes del medio son utilizados como fuente de carbono para el crecimiento y multiplicación microbiana, siendo degradados a compuestos tales como dióxido de carbono y agua o modificándolos a formas menos tóxicas. Dado que el petróleo es una mezcla compleja, su degradación es favorecida por una interacción de diversas especies microbianas.

Una de las técnicas de bioremediación mas difundidas es la denominada lanfarming, que consiste en tratar suelos por aireación mecánica de capas poco profundas, que casi nunca exceden los 30 cm de espesor, con esta técnica es posible conseguir resultados satisfactorios en período de doce meses o mas, dependiendo principalmente del tipo de suelo y contaminante, y de las características climática del lugar (Ercoli 2000).

Para lograr una efectiva degradación es necesaria la presencia de microorganismos y otros organismos en asociaciones apropiadas y en condiciones adecuadas para la actividad biológica. Trabajos realizados recomiendan mantener una microflora una relación adecuada de nutrientes, C:N:P / 100:10:2.

El análisis de la población nematológica del suelo constituye una herramienta valiosa para comprobar la existencia, entre otros organismos, de bacterias, las cuales como se dijo anteriormente, desempeñan un papel fundamental en los procesos de biodegradación. Son de especial interés los nemátodos bacteriófagos, pues estos se convierten en una medida indirecta de la presencia y abundancia de bacterias (Plaza, 1999)

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la eficiencia del proceso de bioremediación por medio de la activación de bacterias autóctonas y por la inoculación de bacterias. Asimismo, evaluar la utilización de suelo recuperado como suelo de aporte para la bioremediación.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo comprende ensayos en laboratorio con suelos contaminados con residuo empetrolado. El suelo fue extraído de un "landfarming", ubicado en Chango Norte, al norte de la provincia de Salta- Argentina, y el residuo, provisto por la Empresa Tecpetrol S. A.

La experiencia consiste en el seguimiento en cajas de la evolución que presenta distintas combinaciones de suelo recuperado (SR), con mínima concentración de hidrocarburos totales (HTP) y alterado con residuo de petróleo (SA) alcanzando una concentración aproximada del 5%.

Las cajas, de material plástico y con capacidad de 15 litros fueron llenadas con 10 litros de suelo recuperado o mezcla según corresponda, y sometidas a un régimen de humectación y aireación similares al manejo de riego y laboreo de un landfarming en condiciones de campo. La humectación y aireado se realizaron dos veces por semana, tratando de mantener una humedad aproximada del 15%, y removiendo con un pequeño escardillo para lograr una mayor soltura de la tierra y permitir la aireación. Las muestras permanecieron en cámara termostatzada a una temperatura de 29°C +/-2 durante el proceso.

Las variantes estudiadas fueron: suelo de landfarming (SR), suelo de landfarming con nutrientes (SRN), suelo de landfarming con residuo de petróleo hasta concentraciones aproximadas del 5 % (SA), suelo de landfarming con residuo de petróleo con el agregado de nutrientes (SAN), suelo de landfarming con residuo de petróleo con inoculación de bacterias provenientes de empresa comercial (SAB) y suelo de landfarming con residuo de petróleo con inoculación y agregado de nutrientes (SABN).

En los casos de inoculación bacteriana, para cada caja se procedió a suspender 20 gr del inóculo en 50 cc. de solución fisiológica, se agregó agua destilada hasta completar 250 cc, con este preparado se regaron las cajas, y luego se aplicó una pulverización de agua en la superficie. En los casos en que se usaron nutrientes, se aplicó fosfato monoácido de amonio y urea en proporción recomendada.

Se analizan las características físico - químico y biológicas del suelo inalterado utilizado en campo, suelo con manejo agrícola para optimizar sus condiciones biológicas y el producto de landfarming, según Standard Methods.

Se determinó heterótrofos aeróbicos totales con técnica de Frioni para evaluar la microflora bacteriana del suelo. Los nematodos se separaron por el método de la bandeja de Baermann modificada, con recuento en microscopio. Las determinaciones de petróleo se hicieron por el método de extracción con cloroformo, según norma ASTM-D1178-60.

Se realizaron dos ensayos en distintas épocas, caracterizando distintos parámetros con frecuencias definidas.

## RESULTADOS EXPERIMENTALES

En Tabla 1 se analizan los suelos utilizados para la bioremediación en campo y en laboratorio. Se observan las características de distintos suelos utilizados para el tratamiento de residuos empetrolados. En el suelo proveniente del landfarming (SR I), existe un desequilibrio por el crecimiento de los bacteriófagos a niveles superiores comparando con los suelos de campo (1400 a 8600), y por disminución de bacterias (1000 a 60 E10). Si bien el total de bacterias se encuentra recuperado en el suelo proveniente del landfarming almacenado durante un mes (SR II), el equilibrio de este suelo se encuentra con una población de bacteriófagos deprimida por condiciones ambientales (almacenamiento). Asimismo los valores del total de nitrógeno y de materia orgánica se encuentran en valores normales.

Parámetros	Suelos de Campo		Experiencia de laboratorio	
	CHNso	CHNsi	SR(I)	SR (II)
Humedad %	13	16	12.67	9.33
pH	7.78	7.08	7.89	8.68
NO3(mg/l)	10	41	43	11
NKT(mg/l)	4125	750	4687.5	1312.5
NH4(mg/l)	13	31	0.7	29
ST(%)	88	83.9378	87.3261	90.666

C/ST(%)	95.73	92.86	97.9894	97.3
SV/ST(%)	4.2664	7.1338	2.0106	2.7
HTP(%)	0,066	0,19	0.57	0.177
Cond.(uS/cm)	0,1	0,33		
Bacterióf.	3780	1400	8600	522
Hettot/g10E10	1500	1000	60	1100

Tabla 1: Parámetros de suelos utilizados para la bioremediación en campo y en laboratorio  
CHNso: Chango Norte suelo operado ( campo) CHNsi: Chango Norte suelo inalterado (campo)  
SR(I): Suelo recuperado, experiencia I (laboratorio) SR(II): Suelo recuperado experiencia II (laboratorio)

Considerando las características biológicas distintas de los suelos utilizados para tratar el residuo empetrolado, en los dos ensayos mostrados en figura 2 y tabla 2, se observa una eficiencia de remoción similar, lo que indicaría que los niveles biológicos existentes son aún apropiados para una bioremediación de hidrocarburo. Asimismo la incorporación de nutrientes favorece la degradación del contaminante (alrededor del 70% de remoción de hidrocarburo)

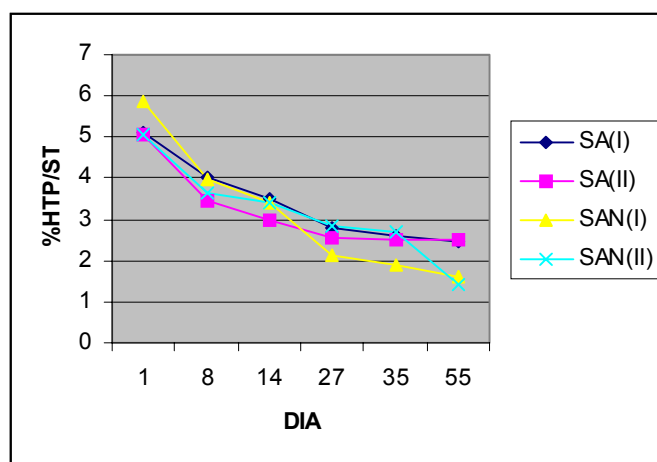


Figura 2: Comparación de ensayos I y II

% Re.HTP ( 55 días)	SA(I)	SA(II)	SAN(I)	SAN(II)
	52.21	50.98	73.0588	71.7732

Tabla 2: Porcentaje de remoción de hidrocarburo total en 55 días

En el primer mes del proceso la velocidad de disminución de hidrocarburo es notable, estabilizándose en los días posteriores (figura 3)

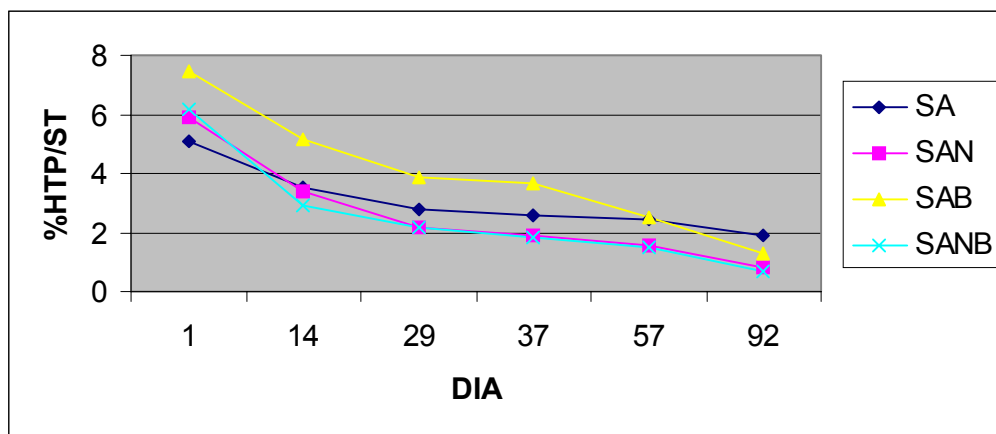


Figura 3: Ensayo I a lo largo de 92 días

A los 92 días los porcentajes de remoción fueron similares para los ensayos con nutrientes y bacterias. Siendo mas efectivos que el suelo alterado y superiores al 80% (tabla 3).

%Re.HTP	SA	SAN	SAB	SANB
(92 días)	62.553	86.499	82.524	88.717

Tabla 3: Ensayo 1, porcentaje de remoción de hidrocarburo a los 92 días

En la figura 4 se observa el comportamiento de los ensayos en la generación de amonio. La producción de amonio fue mayor en los ensayos con mayor remoción de hidrocarburo (SAN y SANB), en donde se observa un aumento considerable en la nematofauna y una tendencia al equilibrio en la microbiología: situación no existente en los otros tratamientos (SR y SA), donde los valores nematológicos y microbiológicos son más irregulares

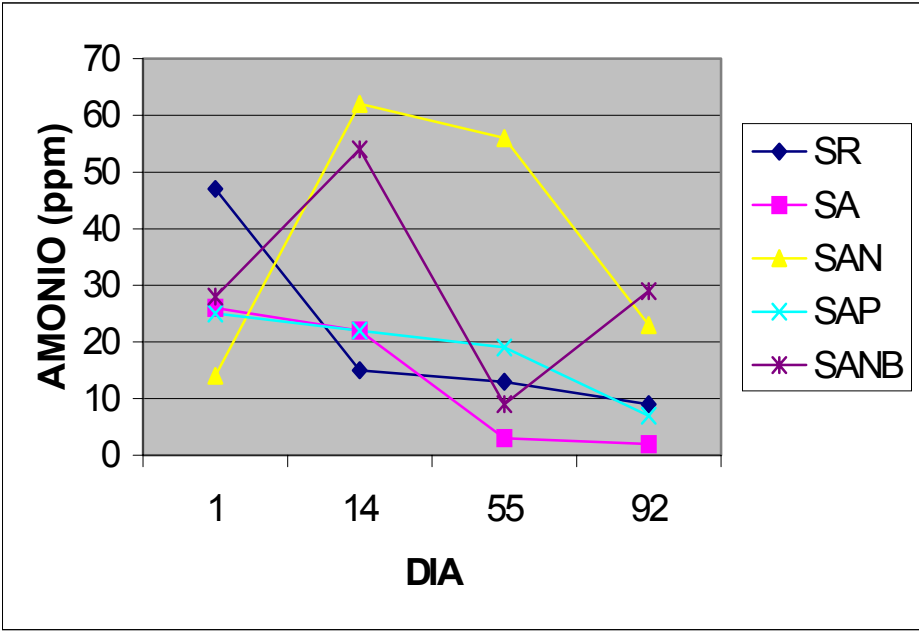


Figura 4: Ensayo I. Generación de amonio a lo largo de la experiencia.

Se observa oscilaciones de la población microbiana durante el proceso (tabla 4). En el ensayo con ausencia de nutrientes y bacterias, la población se mantiene en valores bajos, a tal nivel que desaparecen los bacteriófagos (tabla 5).

DIA	SR	SA	SAN	SAP	SANB
1	6.00E+11	1.80E+12	8.00E+12	2.10E+13	1.20E+13
14	2.00E+13	2.40E+13	1.20E+13	2.30E+12	1.10E+13
21	1.40E+13	6.40E+12	2.80E+13	8.20E+13	2.00E+13
29	1.70E+13	1.80E+13	3.00E+13	2.20E+13	1.40E+13
92	6.70E+12	1.30E+12		3.40E+12	9.60E+12

Tabla 4: Ensayo 1. Determinación de aerobios heterótrofos totales (UFC/ gr. Suelo)

DIA	SR	SA	SAN	SAP	SANB
1	8600	8600	8600	8600	8600
92		0	47520	10000	35267

Tabla 5: Ensayo 1.Nematodos Bacteriófagos ( /100 cc suelo)

En tabla 6 se observa que los valores finales de nutrientes se encuentran dentro de los aconsejados para la agricultura en el caso de los tratamiento con incorporación de nutrientes (fosfato monoácido de amonio)

Dia 92	SA	SAN	SAB	SANB	Valores aconsejados
Nitrato (mg/l)	2	1	1	1	Mayor 0,2
Fosforo(mg/l)	6	67	5	46	Mayor 20
Mat.Org.(mg/)	4.34	4.43	5.45	4.17	Mayor 3,9

Tabla 6. Ensayo I.Caracterización de nutrientes al final del proceso.

## CONCLUSIONES

Considerando el interés de restituir un suelo contaminado en su equilibrio biológico original, es importante que la población de bacteriófagos se encuentre presente en un nivel adecuado para su existencia a lo largo del proceso.

Se aconseja bioremediar suelos contaminados en los niveles del 5% de hidrocarburo con adecuada incorporación de nutrientes para incentivar la actividad microbiana específica.

El suelo recuperado en las condiciones de landfarming posee la capacidad degradativa del contaminante. Por lo que se aconseja la reutilización, no siendo necesario recurrir a nuevos aportes de suelos inalterados, generalmente provenientes de desmontes.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece a la empresa Tecpetrol S. A. por el apoyo en el desarrollo de la investigación

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF) (1995). Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater 19<sup>th</sup> Edition. Eaton, A.D., Clesceri, L.S. and Greenberg, A.E. Eds. APHA, AWWA, WEF,. Washington.
- Ercoli, E; Videla,C; Calleja, C; Galvez, J;Videla, S; Cantero, J; Medaura, C y M. DiPaola. Biorremediación de suelos por técnica de acumulación aireada. 4º Jornadas de preservación de agua, aire y suelo en la industria de petróleo y de gas, 3-6 de oct. Tomo 2. 2000.
- Frioni , L.. Procesos Microbianos. Tomo I y II. Colecc. Manuales. Ed. De la Fundac. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba. 1.999
- G. Plaza, M.C. Otero, M. Gorustovich, y Burgos G.. Incidencia del Tratamiento Biológico de residuos de tabaco en la nematofauna del suelo. Publicado en II Reunion Cientifico Tecnica de biologia del suelo del NOA. Catamarca, Julio de 1999
- Pozzo Ardizzi, M.G; Ferrari M y G.Calderón; Tratamiento para residuos ( Corte) de perforación , base hidrocarburo, aplicando biodegradación con bioaumentación . Gestión, manejo y control. 4º Jornadas de preservación de agua, aire y suelo en la industria de petróleo y de gas, 3-6 de oct. Tomo 1. 2000.

## ABSTRACT

It was studied contaminated soils bioremediation with the interest to decrease the hydrocarbon contaminant effect to no toxic levels.

The laboratory assays, developed at temperature, aeration, and moisture controlled conditions let alternative nutrients, commercial microbes addition, and/or natural soil micro flora profit evaluation.

The results show the natural micro flora activation because of the adequate proportions nutrients utilization. It was obtained 70 % petroleum hydrocarbon removal in 55 process days. Also, It can limit the native soils utilization and not allowing cutting trees when it is not necessary

## KEYWORDS

Contaminant soil, petroleum, bioremediation, bioestimulation.